

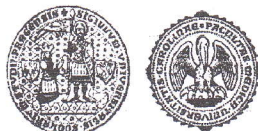
**SPOLEČNÁ LABORATOŘ BIOLOGIE NÁDOROVÉ BUŇKY 1. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UNIVERSITY  
KARLOVY PRAHA A FYZIOLOGICKÉHO ÚSTAVU AV ČR**

Prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc., Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK

U Nemocnice 5, 128 53, Praha 2

Tel/Fax.: +420-2-2496 5826, Mobile: +420-728 748 692, E-mail: Aleksi@mbox.cesnet.cz,

[www.lf1.cuni.cz/lbnb](http://www.lf1.cuni.cz/lbnb)



**Oponentský posudek diplomové práce Anny Plechanovové,  
„Study of the active site of glutamate carboxypeptidase II“**

*Diplomová práce Anny Plechanovové je formálně velmi dobře presentována, je přehledná, psaná dobrou angličtinou (a to nejen z hlediska gramatického, ale i z hlediska čtivosti a „šarmu“), čtenáři napomáhá seznam použitých zkratek.*

Glutamátcarboxypeptidasa II (GCPII) patří mezi typické představitele „moonlighting“ („melouchařících“) molekul. Tento poněkud frivolně znějící název je v literatuře používán pro molekuly s širším funkčním potenciálem, pro molekuly, které jsou ukázkou přírodou „osvědčených“ struktur a které v různých buňkách a orgánech mohou vykonávat různé funkce. V případě GCP II je předpokládáno několik biomedicínsky významných funkcí v CNS a v úrovni spekulací je další funkční portfolio v dalších místech exprese tohoto enzymu: například v prostatě, GIT atd. Z klinického pohledu je tato molekula rovněž markerem prostatického karcinomu a – na vrub své exprese v nádorové neovaskulatuře - možným terapeutickým terčem u některých nádorových onemocnění. Těžiště současného poznání využitelnosti GCPII (a jejích inhibitorů) je v oblasti CNS a proto autorka zahajuje svou práci přehledem obecných zákonitostí neurotransmise. V dalších částech úvodu kandidátka postupně popisuje známě detaily molekulárních aspektů katalytického mechanismu GCPII, včetně všech pro základní výzkum typických zdánlivě rozporných pozorování.

Vlastním cílem práce byla příprava cílených mutantů a analýza některých parametrů interakce GCPII s modelovými substráty. Jedná se o logický postup studia katalytického mechanismu z „obou stran“ – ze strany aktivního centra a substrátu. Autorka připravila sedm a detailněji charakterisovala šest mutovaných forem studovaného enzymu a analyzovala kinetické parametry jeho sedmi modelových substrátů. Ve svých studiích použila autorka množství náročných analytických a molekulárně biologických metod. Získané přesvědčivě zdokumentované výsledky jasně potvrzují skutečně imponující rozsah práce. Výsledky umožňují činit věrohodné závěry o roli některých aminokyselinových zbytků v procesu vazby substrátu a vlastního hydrolytického procesu. Studium modelových substrátů přineslo nové poznatky použitelné pro návrh potenciálně klinicky významných inhibitorů GCPII.

Na předložené práci oceňuji i její širší kontext, daný mezioborovými, vnitřně provázanými projekty týmu domovské laboratoře kandidátky.

**Na základě zjevné závažnosti tématu a vlastního přispění kandidátky k poznání v oboru s potěšením a bez výhrad DOPORUČUJI diplomovou práci přijmout k obhajobě.**

**Pro diskusi předkládám následující otázky:**

V práci citovaná publikace Pangalos et al (1999) zmiňuje dipeptidyl-peptidasovou aktivitu GCPII vůči peptidům a proteinům obsahujícím Pro na předposledním (či každém sudém) místě od N-konce. Je tento předpoklad již zcela vyvrácen?

Autorka popisuje výrazně nižší „expresní výkonnost“ mutovaných forem GCPII. Tento fenomén neshledává jako důsledek změny afinity Abs a tím za de-facto detekční artefakt. Má k tomuto předpokladu ještě další vysvětlení? Sám fakt, že mutace nepostihují sekvenci interagující s protilátkou nevylučuje změnu afinity danou například změnou konformace antigenní struktury.

Jaké jsou další vědecké plány autorky?



V Praze, 14.5.2006

Prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc